

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-23637

(P2000-23637A)

(43) 公開日 平成12年1月25日 (2000.1.25)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード [*] (参考)
A 2 3 L 1/30		A 2 3 L 1/30	B
2/52		2/02	B
2/02		A 6 1 K 31/00	6 3 5
A 6 1 P 35/00		35/78	K
A 6 1 K 35/78		A 2 3 L 2/00	F
審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 7 頁)			

(21) 出願番号 特願平11-89605

(22) 出願日 平成11年3月30日 (1999.3.30)

(31) 優先権主張番号 特願平10-123046

(32) 優先日 平成10年5月6日 (1998.5.6)

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 596135755

株式会社愛媛柑橘資源開発研究所

愛媛県松山市安城寺町478番地

(72) 発明者 岡田 李司

愛媛県松山市安城寺町478番地 株式会社

愛媛柑橘資源開発研究所第2研究部内

(72) 発明者 東 誠広

愛媛県松山市安城寺町478番地 株式会社

愛媛柑橘資源開発研究所第2研究部内

(72) 発明者 大和田 厚

愛媛県松山市安城寺町478番地 株式会社

愛媛柑橘資源開発研究所内

(74) 代理人 100102004

弁理士 須藤 政彦

(54) 【発明の名称】 かんきつ果汁由来のカロチノイド高含有粉末の製造方法

(57) 【要約】

【課題】 かんきつ果汁由来のカロチノイド高含有バルブ及びその粉末の製造方法等を提供する。

【解決手段】 本発明は、かんきつ類の果実を搾汁、ろ過又は篩別後、遠心分離して得られる沈殿物に酵素剤を添加して凍結し、解凍した後、脱水することを特徴とするカロチノイド高含有バルブの製造方法、上記カロチノイド高含有バルブを加水して脱水する操作を繰り返した後、乾燥、粉砕することを特徴とするカロチノイド高含有粉末の製造方法、カロチノイド高含有粉末を含有又は有効成分とする食品又は抗癌性作用を有する組成物、に関する。

【効果】 カロチノイド、 β -クリプトキサンチン等の含有率が増強されたカロチノイド高含有バルブ及びその粉末を簡便な操作及び低コストで量産することができる。

BEST AVAILABLE COPY

【特許請求の範囲】

【請求項1】 かんきつ類の果実を搾汁、ろ過又は篩別後、遠心分離して得られる沈澱物に酵素剤を添加して凍結し、解凍した後、脱水することを特徴とするカロチノイド高含有バルブの製造方法。

【請求項2】 かんきつ類の果実が、温州みかんである請求項1に記載のカロチノイド高含有バルブの製造方法。

【請求項3】 請求項1又は2に記載の方法で得られたカロチノイド高含有バルブを加水して脱水する操作を繰り返した後、乾燥することを特徴とするカロチノイド高含有粉末の製造方法。

【請求項4】 請求項3に記載の方法で製造してなるカロチノイド等の成分が濃縮されたカロチノイド高含有粉末。

【請求項5】 請求項1、2又は3に記載の方法で得られたカロチノイド高含有バルブ又はカロチノイド高含有粉末を含有してなる食品。

【請求項6】 請求項1、2又は3に記載の方法で得られたカロチノイド高含有バルブ又はカロチノイド高含有粉末を有効成分とする抗癌作用を有する組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、カロチノイド等の成分が濃縮されたカロチノイド高含有バルブ又はその粉末の新規製法及びそれらの用途に関する。更に詳しくは、本発明は、かんきつ類の果実を搾汁、ろ過又は篩別後、遠心分離して得られる沈澱物を原材料として、カロチノイド高含有バルブを製造する方法、該カロチノイド高含有バルブを乾燥してカロチノイド高含有粉末を製造する方法、該カロチノイド高含有バルブ又はその粉末を含有する食品、及び該カロチノイド高含有バルブ又はその粉末を有効成分とする抗癌作用を有する組成物に関する。

【0002】

【従来の技術】従来、かんきつ類等の果実のカロチノイドは、例えば、食品用の天然色素等として広く利用されており、一般に、かんきつ類等の果実を原料として、カロチノイドを含有する粉末を製造する方法が種々開発されている。その代表的なものとして、例えば、かんきつ類等の黄色色素を含む原材料を、加熱油中に浸漬し、油温により脱水して、カロチノイドを含んだ原材料を回収し、脱油して乾燥、粉碎する方法（特公平4-38388号公報）、更に、果皮等のカロチノイド含有天然物の粉碎物を水中で生体高分子分解酵素と反応せしめ、酵素反応を終えた時点で遠心分離によりその固液分離を行い、水溶性成分と固形成分を分離し、得られた固形物を乾燥、粉碎してカロチノイド系粉末色素を製造する方法（特開昭62-190090号公報）等が報告されている。

【0003】しかし、これらの方法は、油温による脱水、酵素反応、通風乾燥等の加温又は加熱工程を有しており、これらの工程におけるカロチノイドの低減を避けることは困難である。また、上記特公平4-38388号公報に記載された方法は、原材料の脱水を目的とした方法であり、カロチノイドの濃度を高める方法としては必ずしも好適なものではない。また、温州みかん由来のカロチノイドは、 β -クリプトキサンチンを主要構成成分としている点で、他の果実類や野菜等にはない高い付加価値を有していると云えるものの、一般に果実類や野菜等に含有されるカロチノイドの含有量は少なく、温州みかんにおいてもその含有量は100g当たり果皮部で10mg程度、果肉部で2mg程度ときわめて僅少である。従って、これらの成分を高レベルで含有する粉末を製造するためには、原料を大量に処理すること、そして、それに伴う各種の処理装置を設置すること、そのために、多額の設備投資をすること、が必要とされる。

【0004】一方、一般に、かんきつ類の果皮、及び果肉には約30種類以上のカロチノイドが含まれている（日食工誌、18、468、1971）。そして、例えば、温州みかんの果実の場合、その果皮のカロチノイドの構成比は、その成熟過程で大きく変化するが、果肉のカロチノイドの構成比はその成熟過程でほとんど変化しない（日食工誌、18、359、1971）。このため、カロチノイドを色素としてのみ利用するのではなく、その生理活性に着目して、カロチノイドを高レベルで含有する粉末を製造する場合には、果皮や全果（果皮+果肉）に比べて果肉のほうが品質の安定した製品を製造できる点で好適である。しかし、これまで、かんきつ類の果肉のみを原材料としてカロチノイド高含有粉末を製造する方法は開発されていない。

【0005】かんきつ類の果実を搾汁して、ろ過又は篩別後、遠心分離して得られる沈澱物には、食物繊維、カロチノイド、フラボノイド等のいわゆる機能性成分が豊富に含まれているが、該沈澱物は、殆ど有効利用されずに、搾汁粕と同様に乾燥され、飼料等に供されている状況にある。該沈澱物が食品等として殆ど利用されていない原因としては、一般に、日本においては、沈澱物の多い果汁は消費者に好まれないこと、該沈澱物はペクチン等の影響により高粘度で濃縮が困難であること、保管に経費がかかること、常温保管中のカロチノイドの分解、褐変現象により、その食味、色調が変化すること等があげられる。また、上記沈澱物の濃縮に酵素剤を使用した粘度低下方法を適用したとしても、酵素反応、濃縮操作に加温、攪拌が必要であり、これらの工程におけるカロチノイドの低減を回避することは困難である。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】このような状況の中で、本発明者等は、かんきつ類の果実を搾汁、ろ過又は篩別後、遠心分離して得られる沈澱物から、カロチノイ

ドの分解を促進する加温等の工程を採ることなく、また、設備投資をほとんど行うことなく、カロチノイド成分を効率よく濃縮することが可能な新しい方法を開発することを目標として鋭意研究を積み重ねた結果、該沈澱物に酵素剤を添加し、これを凍結後、解凍する工程を採用することにより、遠心分離等による簡便な操作により容易に該沈澱物の脱水、濃縮が可能となり、品質の安定したカロチノイド高含有バルブ及びその粉末を製造できることを見出し、本発明を完成するに至った。即ち、本発明は、カロチノイド等の成分が濃縮されたカロチノイド高含有バルブ及びその粉末を簡便な操作で効率よく製造する方法を提供することを目的とする。また、本発明は、カロチノイド及びβ-クリプトキサンチンの含有率の増強されたカロチノイド高含有粉末を提供することを目的とする。また、本発明は、上記カロチノイド高含有粉末を含有してなる食品を提供することを目的とする。さらに、本発明は、上記カロチノイド高含有粉末を有効成分とする抗癌性作用を有する組成物を提供することを目的とする。

【0007】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決する本発明は、以下の技術的手段からなる。

(1) かんきつ類の果実を搾汁、ろ過又は篩別後、遠心分離して得られる沈澱物に酵素剤を添加して凍結し、解凍した後、脱水することを特徴とするカロチノイド高含有バルブの製造方法。

(2) かんきつ類の果実が、温州みかんである前記

(1)に記載のカロチノイド高含有バルブの製造方法。

(3) 前記(1)又は(2)に記載の方法で得られたカロチノイド高含有バルブを加水して脱水する操作を繰り返した後、乾燥することを特徴とするカロチノイド高含有粉末の製造方法。

(4) 前記(3)に記載の方法で製造してなるカロチノイド等の成分が濃縮されたカロチノイド高含有粉末。

(5) 前記(1)、(2)又は(3)に記載の方法で得られたカロチノイド高含有バルブ又はカロチノイド高含有粉末を含有してなる食品。

(6) 前記(1)、(2)又は(3)に記載の方法で得られたカロチノイド高含有バルブ又はカロチノイド高含有粉末を有効成分とする抗癌作用を有する組成物。

(7) 上記カロチノイド高含有バルブ又はその粉末を用いて精製β-クリプトキサンチンを製造する方法。

【0008】

【発明の実施の形態】次に、本発明について更に詳細に説明する。本発明においては、原材料として、かんきつ類の果実が使用される。本発明で使用されるかんきつ類の果実としては、例えば、温州みかん、伊予柑、夏みかん、八朔、ポンカン、ネーブルオレンジ、レモン、バレンシアオレンジ、グレープフルーツ等の果実類が代表的なものとしてあげられるが、これらに限らず、これらと

同等又は類似のものであれば同様に使用することが可能である。これらのかんきつ類の果実の中で、温州みかん等のマンダリン系の果実は、他のかんきつ類に比べてカロチノイド含有量が多いだけでなく、β-クリプトキサンチンが主要構成成分であるという特徴を有している。このβ-クリプトキサンチンは、栄養成分としてプロビタミンAの特性を備えているだけでなく、最近の抗癌性物質についての研究成果の中で、にんじん等の緑黄色野菜に含有されているカロチノイドであるβ-カロチンよりも強い抗癌作用を有することが報告されている(Biol. Pharm. Bull. 18, 2, 227, 1995)。これらのことから、本発明で使用されるかんきつ類の果実としては、温州みかん等のマンダリン系の果実が特に好適なものとして例示される。

【0009】本発明においては、原材料として上記かんきつ類の果実であれば、その果皮、全果、果肉のいずれも使用されるが、前記の如く、例えば、温州みかんの場合、特に、果肉を使用することにより品質の安定した製品を製造することが可能となる。かんきつ類の果実は、選果、洗浄を経て搾汁される。一般に、搾汁機としては、例えば、インライン搾汁機、チョッパーバルブ搾汁機、ブラウン搾汁機等が用いられており、本発明においては、これらの搾汁機が使用される。搾汁された果汁は、しょうのう皮の小片や粗大なバルブを含んでおり、これらの夾雑物を除去するためにフィニッシャー等でろ過又は篩別処理される。このろ過又は篩別処理には、例えば、バドル型、スクリー型等のフィニッシャーが使用され、そのスクリー目の大きさは、通常、0.3～0.5mmのものが使用される。

【0010】本発明においては、ろ過又は篩別処理されたジュースは、そのまま又は濃縮された後、果汁のバルブ量を調整するために遠心分離される。本発明においては、この遠心分離操作で得られた沈澱物(以下、沈澱物と記載することがある。)を原材料とする。本発明者等は、果汁中でのバルブとカロチノイド含量は比例して存在しているのではなく、バルブの大きな粒子よりもむしろバルブの小さな粒子と共に存在していること、軽遠心分離と重遠心分離を組合せることによりこれらを効率よく分離できること、その結果、カロチノイドを高レベルに含有するバルブを効率よく製造できること、を見出した(特願平9-238853号)。本発明においては、遠心分離の方法及び条件は、特に限定されるものではないが、上記処理方法により分離した小さな粒子のバルブを使用する方法、即ち、軽遠心分離して得た上清部を更に重遠心分離して得た沈澱部を原材料として用いる方法、が好適なものとして例示される。ここで、軽遠心分離とは、バルブの大きな粒子を分離できるレベルの遠心分離を、また、重遠心分離とは、バルブの小さな粒子を分離できるレベルの遠心分離を意味するものとして定義されるものであり、適宜の条件が採用されるが、通常

は、軽遠心分離の遠心強度は $3,000 \times g \cdot \text{分}$ 以下であり、重遠心分離の遠心強度は $1,500 \times g \cdot \text{分}$ 以上であり、軽遠心分離操作の遠心強度を重遠心分離の遠心強度よりも低く設定する必要がある。

【0011】本発明では、上記沈澱物に酵素剤を添加するが、本発明で使用される酵素剤とは、ヘクチナーゼ、セルラーゼ、ヘミセルラーゼ、プロテアーゼ、リパーゼ、マセレーションエンザイム、プロトヘクチナーゼ等の酵素又はそれを含む適宜の酵素剤を意味するものとして定義される。通常は、これらの酵素の1種が使用されるが、必要に応じて、これらの酵素の2種以上を混合して使用することも可能である。上記沈澱物は高粘度であり、そのまま酵素剤を添加しても溶解することはできない。このため、予め酵素を少量の精製水に溶解しておくことが必要となる。酵素剤は、好適には、沈澱物1kg当たり0.5g～10gの範囲で添加する。そして、適当な容器（例えば、ドラム缶やガロン缶に樹脂製袋を内装したもの）に沈澱物を充填して、 $-10^{\circ}\text{C} \sim -30^{\circ}\text{C}$ の冷凍庫に入れて沈澱物を凍結させる。沈澱物を完全に凍結させるには、例えば、15kg詰ガロン缶で2～4日、180kg詰ドラム缶で6～8日を要する。本発明では、沈澱物に酵素剤を添加し、これを加温することなく凍結する。

【0012】次に、凍結させた沈澱物を解凍する。凍結品は、沈澱物が完全に凍結された直後又は凍結品として保管後に解凍する。実際の操業では、果汁の生産時期との関係で、例えば、予め保管された凍結品を搾汁のシーズンオフに解凍する方法が、搾汁シーズンにフル稼働している遠心分離機や貯留タンク等の設備を有効活用できる点、沈澱物を冷凍庫で貯蔵するコストが必要とされる他は、本発明の方法に関わる設備投資はほとんど必要とされない点、から好ましい。通常は、凍結した沈澱物を常温の室内又は屋外に放置して解凍する。解凍に要する時間は、例えば、15kg詰ガロン缶で1～2日、180kg詰ドラム缶で4～6日である。上記凍結及び解凍により固液分離が顕著に促進される効果が得られる。

【0013】解凍された沈澱物を遠心分離機を用いて脱水処理をして、固形部（バルブ）を調製する。解凍された沈澱物は、著しく低粘性となっているので、容易に脱水可能である。遠心分離機としては、例えば、円筒型、分離板型、デカンター型等適宜の装置が使用される。この場合、時間当たりの処理量を低減させればカロチノイドの収率は高くなる。得られたバルブを、例えば、果汁等の飲料に微量添加し、必要に応じて、ホモジナイザー等を用いて均質化することにより、色調の豊かなカロチノイド高含有ジュース等の飲料を製造することができる。また、得られたバルブをこの段階でガロン缶、ドラム缶等の容器に内装した樹脂製の袋に入れて冷凍保管することにより、固形部のカロチノイド含量が経時的に低減することを防止できる。

【0014】次に、固形部に5～10倍量の精製水を加水して、十分に攪拌した後、遠心分離して脱水する。この操作により、固形部の水溶性固形物の除去及び添加した酵素の活性を低減することができる。また、この操作を1～3回繰り返すことにより、得られた固形部は、当初の沈澱物の容量に比べて5分の1～12分の1に低減し、カロチノイドの含有率は、当初の沈澱物の5～12倍に増加する。

【0015】得られた固形部は、適宜の方法、例えば、凍結乾燥機により乾燥する方法、又は、必要に応じて、加水して噴霧乾燥装置により乾燥する方法により乾燥して、乾燥品を調製する。この場合、通風乾燥は、固形部の品温上昇によりカロチノイドを著しく低減させるので好ましくない。上記乾燥品は、必要に応じて、粉碎機等を用いて粉碎し、本発明のカロチノイド高含有粉末を調製する。得られた粉末は、金属の影響の無い容器（例えば、ガラス容器）に窒素等の不活性ガスで置換しながら充填し、密栓した後、冷凍庫に保管する。上記粉末製品は、カロチノイドが経時的に僅かずつ低減するので、速やかに使用することが望ましい。上記バルブ製品は、冷凍保管中にカロチノイドが低減することはほとんど無いが、その理由は、バルブに含まれている水分が、空気とカロチノイドの接触を防ぐことによるものと考えられる。

【0016】本発明の製品である上記カロチノイド高含有バルブ又はその粉末は、それらを含む又は有効成分とする機能性食品又は抗癌性作用を有する組成物、該組成物からなる医薬等を製造する原料として有用である。また、上記カロチノイド高含有粉末は、果汁製品等の食品の着色にも好適に使用される。本発明の粉末は、カロチノイドを高レベルに含有しているだけでなく、水分をほとんど含有していないので、有機溶剤の使用量を著しく低減できること、また、糖質等の水溶性固形分をほとんど含有していないので抽出操作が容易であること、から、特に、天然色素の抽出原料として好適に使用される。更に、温州みかん等のマンダリン系かんきつ類由来の粉末は、 β -クリプトキサンチンの精製原料としても好適に使用される。

【0017】本発明において、カロチノイド高含有粉末とは、カロチノイド等の成分が濃縮されたかんきつ果汁由来の粉末であって、該粉末100g中に300～1000mg程度のオーダーのカロチノイドを含有する粉末を意味する。該粉末は、食用に供されているかんきつ果汁由来の天然物であり、その安全性は保証されている。上記カロチノイド高含有バルブ又はその粉末を含む又は有効成分とする機能性食品又は抗癌性作用を有する組成物における、それらの配合量としては、0.01%～10%が好適なものとして例示されるが、これに限定されるものではない。また、上記組成物の医薬としての有効投与量、投与方法、また、上記食品及び組成物の製品の

形態等については特に制限はない。

【0018】

【実施例】以下に、実施例に基づいて本発明を具体的に説明する。しかし、本発明は、当該実施例によって何ら限定されない。

実施例1

(1) 沈澱物の調製

原料果実として、温州みかんの果実230トンを使用し、これを搾汁、ろ過、軽遠心分離、重遠心分離の各工程で処理した。使用した機器及び処理条件を以下に示す。また、各工程で得られた果汁、沈澱物（バルブ）の分析結果を表1に示す。

搾汁：FMC社製インライン搾汁機（小玉は191型、中玉は291型、大玉は391型を各々使用した。）

ろ過：精研舎製フィニッシャー（0.5mmスクリーンを使用した。）

軽遠心分離：ウエストファリアセバレータ社製遠心分離器SB-60型（2,550×g・min.に設定した。）

重遠心分離：ウエストファリアセバレータ社製遠心分離器SB-60型（3,360×g・min.に設定した。）

【0019】

【表1】

	収量 (トン)	カロチノイド (mg/100g)
果汁（搾汁後）	129	2.3
果汁（ろ過後）	120	2.2
軽遠心分離の沈澱物	4.8	6.1
重遠心分離の沈澱物	1.05	42.2

【0020】(2) カロチノイド高含有バルブの調製（凍結、解凍、脱水処理）

上記(1)の方法で得た沈澱物を原材料として、以下の工程により、本発明のバルブ製品を製造した。

1) 酵素剤として、ペクチナーゼ系の酵素剤（スミチームSPC、新日本化学株式会社製）を使用し、これを10倍量になるように精製水を添加して溶解させ、酵素水*

* 溶液を調製した。

2) 上記(1)で調製した重遠心分離の沈澱物を45kg秤取り、該沈澱物に上記酵素水溶液を0.1%添加し、充分に攪拌した。

3) 18リットル用5ガロン缶3缶に樹脂製の袋を2重に内装し、これに上記酵素水溶液を添加した沈澱物を各15.05kgずつ充填した。上記袋の口を輪ゴムで止めた後、蓋をして、-25℃の冷凍庫に保管して、沈澱物を凍結させた。

4) これを3日間冷凍庫に保管した後、室温で30時間放置して、沈澱物を解凍させた。

5) 解凍した沈澱物を別のステンレス製の容器に入れ、また、上記樹脂製の袋に付着した沈澱物を5リットルの精製水で洗い、該洗浄水を同じステンレス製の容器に入れた。

6) この沈澱物をシャープレス型遠心分離機を用いて脱水処理し、固形分（カロチノイド高含有バルブ）を調製した。

【0021】(3) カロチノイド高含有粉末の調製（加水/脱水、乾燥、粉碎処理）

上記(2)の方法で得たバルブを用いて、以下の工程により、本発明の粉末製品を製造した。

1) 次に、上記(2)で得た固形分を10倍量になるよう精製水を添加して充分に攪拌した後、遠心分離機を用いて脱水処理し、この操作を繰り返して、計3回の加水/脱水の操作をした。

2) 得られた固形分をホーロー製のバッドに入れ、冷凍庫に保管して、凍結させた後、これを凍結乾燥機を用いて2日間凍結乾燥し、乾燥品を調製した。

3) 得られた乾燥品をミルで粉碎し、粉末（カロチノイド高含有粉末）を調製した。

4) 得られた製品を窒素置換しながら褐色のガラス瓶に充填し、密封した後、冷凍庫に保管した。

上記(1)の処理前、上記(2)の遠心（脱水）後、上記(3)の乾燥後における沈澱物の重量及びカロチノイド含量等の分析結果を表2に示す。

【0022】

【表2】

	重 量		カ ロ チ ノ イ ド		
	kg	%	含 量 mg%	総 量 g	収 率 %
処理前	45.00	100.0	42.2	18.99	100.0
遠心後	4.55	10.1	390.8	17.78	93.6
乾燥後	1.41	3.1	1080.4	15.23	80.2

【0023】原材料の沈澱物及び本発明の粉末（カロチノイド高含有粉末）の分析結果を表3に示す。表3から明らかなように、本発明の粉末は、カロチノイドの一種であるβ-クリプトキサンチンやヘスペリジンを多量に

含有することがわかった。

【0024】

【表3】

		沈着物	粉末
水分	g/100g	88.0	1.1
糖質	g/100g	9.3	25.1
たんぱく質	g/100g	2.0	39.1
脂質	g/100g	0.2	32.9
繊維	g/100g	0.2	0.4
灰分	g/100g	0.3	1.4
ヘスベリジン	mg/100g	106.4	3583.7
カロチノイド	mg/100g	42.2	1080.4
β-クリプトキサンチン	mg/100g	24.6	669.2

【0025】実施例2

本実施例では、上記実施例1の方法で製造したカロチノイド高含有粉末（以下、CRPと記載することがある。）の抗癌性について検討した。即ち、ラットを用いて、CRPの大腸癌前駆病変（aberrant crypt foci、以下ACFと略す）に対する影響と、肝、大腸、舌の解毒酵素glutathione S-transferase (GST) 活性、quinone reductase (QR) 活性に対する影響を調べて、その癌抑制効果を検討した。

(1) 実験方法

実験1：本実験では、上記CRPの大腸における発癌抑制作用の有無についてACFを指標として雄F344ラット（5週齢）32匹を用いた短期実験で検討した。ラットにAOM (azoxymethane、20mg/kg体重) を週1回、計2回投与してACFを誘発させた。CRPは0.05% (500ppm) の濃度で基礎食CE-2に混ぜ、AOM投与開始の1週間前から4週間、混餌投与し、その後7週間、基礎食CE-2で維持した。即ち、第1群はAOMのみの群（10匹）、第2群はAOM+0.05%CRP（10匹）、第3群は0.05%CRP（6匹）、第4群は無処置対照群（6匹）の実験群を設け、実験開始後4週、11週の時点で犠牲死させ、摘出した大腸を0.5%メチレンブルーで30秒間染色し、顕微鏡下にACFを観察、測定した。

【0026】実験2：本実験では、CRPの大腸、肝に*

*おける解毒酵素GST活性、QR活性に対する修飾効果を検討した。即ち、雄F344ラット20匹に0mg/kg体重、40mg/kg体重、200mg/kg体重、400mg/kg体重の濃度でアラビアゴムに懸濁したCRPを1日1回、計5回強制胃内投与し、最終投与の30分後に犠牲死させ、摘出した肝、大腸、舌のGST、QR活性を測定した。

【0027】(2) 結果

上記実験1及び実験2の結果を表4及び表5に示す。

【0028】

【表4】

	週	発生率	総ACF数
AOM	4	5/5	80±3
	11	5/5	119±5
AOM+CRP	4	5/5	64±9
	11	5/5	97±11
CRP	4	0/3	0
	11	0/3	0
無処理	4	0/3	0
	11	0/3	0

【0029】

【表5】

		酵素活性 (mU/mg protein)			
CRP投与量 (mg)		0	40	200	400
GHT	肝	800	1015	1003	1149
	腸	153	170	171	176
	舌	48	64	62	59
QR	肝	122	151	149	161
	腸	523	539	529	589
	舌	238	295	296	289

【0030】実験1の結果：4週時には、AOMを投与したラットの大腸にはすべてACFが発生したが、CRPのみの投与群と無処置対照群にはACFの発生はみら

れなかった。大腸当たりの総ACFは、AOM+0.05%CRP群でAOMのみの群に比べ有意に低下していた (P<0.01)。11週時には、4週時と同様にA

OMを投与したラットの大腸にはすべてACFが認められたが、CRPのみの投与群と無処置対照群にはACFの発生はみられず、大腸当たりの総ACFも、AOM+0.05%CRP群でAOMのみの群に比べ有意に低下していた($P<0.005$)。

【0031】実験2の結果：肝におけるGST、QR活性はいずれの濃度のCRP投与でも有意に増加していた($P<0.02$)。大腸におけるGST活性はいずれの濃度のCRP投与でも有意に増加し($P<0.05$)、QR活性は400mg/kg体重の投与で有意に増加した($P<0.001$)。一方、舌におけるGST活性はいずれの濃度のCRP投与でも有意に増加し($P<0.005$)、QR活性は200mg/kg、400mg/kg体重の投与で有意に増加した($P<0.05$)。

【0032】以上の結果より、CRPはAOM誘発ACFを抑制する効果を有すること、CRPは大腸癌抑制作用を有すること、が期待される。また、その機序として、肝、大腸の解毒酵素GST、QRの誘導が考えられる。更に、舌におけるGST、QRの誘導作用もあることから、CRPの口腔癌抑制効果も期待される。CRP 100g中には β -クリプトキサンチンを含めたカロチノイドが1g、ヘスペリジン3.58g等が含まれており、これらの成分がCRPの癌抑制作用に貢献しているものと考えられる。

【0033】実施例3

本実施例では、本発明の粉末(カロチノイド高含有粉末)を用いて、機能性食品を製造した。上記実施例1で製造したカロチノイド高含有粉末をかんきつ系の果汁飲料に100g当たり2g添加し、これをホモジナイザーで均質化して、カロチノイドを高レベルに含有する機能性食品を製造した。得られた製品は、カロチノイド、及び、特に、 β -クリプトキサンチンの生理活性を保有する機能性食品として有用である。

【0034】実施例4

本実施例では、本発明の粉末(カロチノイド高含有粉末)を用いて、抗癌性作用を有する組成物を製造した。上記実施例1の方法により得られた粉末1000gをエチルアルコールで抽出処理し、不溶物をろ過した後、ロータリーエバポレーターでエチルアルコールを溶媒留去して、エチルアルコール抽出物を調製した(収量125g)。このアルコール抽出物を用いて、通常の製剤手段により、以下の組成を有する抗癌性作用を有する組成物を製造した。得られた組成物は、抗癌性作用を有する医薬として有用である。

エチルアルコール抽出物	500mg
製剤用の不活性添加剤	500mg

【0035】

【発明の効果】以上詳述したように、本発明は、かんきつ類の果実を搾汁、ろ過又は篩別した後、遠心分離して得られる沈澱物に酵素剤を添加して凍結し、解凍した後、脱水することを特徴とするカロチノイド高含有バルブの製造方法等に関するものであり、本発明によれば、以下のような効果が奏される。

(1) カロチノイド等の成分が濃縮されたカロチノイド高含有バルブ及びその粉末を簡便な操作及び低コストで量産することができる。

(2) カロチノイドの含有率が原材料の沈澱物の5~12倍に増強されたカロチノイド高含有バルブを製造することができる。

(3) カロチノイド及び β -クリプトキサンチンの含有率の増強されたカロチノイド高含有粉末を提供することができる。

(4) カロチノイド高含有バルブ及びその粉末を含有又は有効成分とする食品又は抗癌性作用を有する組成物を提供することができる。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.